

Abdillah et al., Efektivitas Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) sebagai Bahan....

Efektivitas Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) sebagai Bahan Pembersih Gigi Tiruan terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada Basis Akrilik Heat Cured

*The Effectiveness of Srikaya (*Annona squamosa* L.) Seed Extract as Denture Cleanser Agent to Growth Inhibition of *Streptococcus mutans* in Denture Acrylic Base*

Muchammad Fahmi Rizqi Abdillah¹, FX Ady Soesetijo², Dewi Kristiana²

¹ Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

²Departemen Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Jl. Kalimantan 37, Jember. 68121.

Email: mfahmi_ra@yahoo.com

Abstract

The rough surface of a heat cured acrylic resin as a denture base can cause a pathogenic buildup of plaques and biofilms, so an effort to clean the denture base is needed. The available denture cleaning chemicals are proof of some disadvantages, so it is necessary to do research on alternative natural ingredients. Srikaya seed extract using ethanol 96% solvent has been shown to have antibacterial activity and with its various properties, so that it has the potential to become denture cleaning agents. Samples were made based on ADA No.17 specifications with 5 samples in each of the 6 treatment groups, sampling using Simple Random Sampling. Samples contaminated with *S. mutans* were soaked in srikaya seed extract 25%, 50%, 75%, 100%, 0.5% NaOCl and sterile aquadest. There was a significant difference ($p < 0.05$) in each treatment group. There is an influence of the difference in concentration of srikaya seed extract on the growth of *S. mutans* bacteria on a heat cured acrylic base.

Keywords: heat cured acrylic resin, *S.mutans*, srikaya seed extract, absorbance

Abstrak

Permukaan kasar pada resin akrilik *heat cured* sebagai basis gigi tiruan dapat menyebabkan penumpukan plak dan biofilm yang bersifat patogenik, sehingga dibutuhkan usaha pembersihan basis gigi tiruan. Bahan kimia pembersih gigi tiruan yang tersedia buktinya memiliki beberapa kerugian, sehingga perlu dilakukan penelitian terhadap bahan alami alternatif. Ekstrak biji srikaya menggunakan pelarut etanol 96% terbukti memiliki aktivitas antibakteri serta dengan berbagai khasiatnya, sehingga berpotensi menjadi bahan pembersih gigi tiruan. Sampel dibuat berdasarkan spesifikasi ADA No.17 dengan jumlah 5 sampel pada tiap 6 kelompok perlakuan, pengambilan sampel menggunakan teknik *Simple Random Sampling*. Sampel yang telah dikontaminasi *S.mutans* direndam dalam ekstrak biji srikaya 25%, 50%, 75%, 100%, NaOCl 0,5% dan *aquadest* steril. Terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) pada masing-masing kelompok perlakuan. Terdapat pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak biji srikaya terhadap pertumbuhan bakteri *S.mutans* pada basis akrilik *heat cured*.

Kata Kunci: resin akrilik *heat cured*, *S.mutans*, ekstrak biji srikaya, absorbansi

Pendahuluan

Kehilangan gigi adalah kondisi lepasnya satu atau lebih gigi dari soketnya [1]. Berdasarkan data dari *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2012 melaporkan bahwa 30% populasi di dunia pada rentang usia 65-74 tahun telah mengalami kehilangan seluruh gigi [2]. Kehilangan gigi dapat dilakukan perawatan melalui pemakaian gigi tiruan, hal ini memiliki beberapa tujuan yaitu mengembalikan fungsi fonetik, fungsi mastikasi, serta fungsi estetik [3].

Resin akrilik polimetil metakrilat *heat cured* merupakan bahan basis gigi tiruan yang sering digunakan karena memiliki beberapa kelebihan antara lain non-toksik, tidak mengiritasi, tidak mudah larut, estetik baik, mudah dimanipulasi dan direparasi, serta memiliki perubahan dimensi yang kecil [4]. Akan tetapi, resin akrilik yang bersifat polar dapat menyerap air, sehingga menyebabkan pecahnya molekul polimer dan menimbulkan keretakan mikro (*micro cracking*) pada basis gigi tiruan [5].

Kekasaran permukaan akrilik dapat mempengaruhi adesi mikroorganisme, hal ini dikarenakan adanya luas permukaan yang lebih besar serta tersedianya tempat berlindung untuk berkolonisasi [6]. Sebuah lapisan tipis yang dibentuk oleh saliva atau disebut pelikel merupakan mediator respons biologis yang dapat memicu perlekatan mikroorganisme, sehingga terbentuk plak pada basis akrilik. Plak yang terdiri dari kumpulan berbagai mikroorganisme (terutama bakteri) melekat pada permukaan gigi maupun basis akrilik melalui suatu polimer antara matriks bakteri dan komponen saliva [7].

Denture stomatitis adalah salah satu infeksi mukosa rongga mulut yang biasa disebabkan oleh jamur dan beberapa spesies bakteri pada jaringan yang tertutup oleh gigi tiruan [8]. Prevalensi *denture stomatitis* berkisar antara 30-50% pada pengguna gigi tiruan lengkap, dengan penderita biasa ditemukan pada lanjut usia dan lebih banyak ditemukan pada wanita [9]. Adhesi jamur maupun bakteri pada epitel rongga mulut merupakan tahap pertama dalam kolonisasi mikroba, dimana bakteri *S.mutans* merupakan inisiator pembentukan biofilm dan memfasilitasi adhesi mikroba ke mukosa maupun permukaan gigi tiruan [10]. *S.mutans* mensintesis sukrosa menjadi substrat polisakarida ekstraseluler berupa dekstran atau levan yang lengket, sehingga menyediakan media bagi jamur maupun bakteri lain untuk menempel pada basis gigi tiruan [11].

Pembersihan gigi tiruan penting dilakukan untuk menjaga kesehatan rongga mulut dan

memperpanjang usia perawatan gigi tiruan [12]. Larutan sodium hipoklorit (NaOCl) 0,5% adalah salah satu bahan kimia yang sering digunakan sebagai bahan pembersih gigi tiruan [13]. Akan tetapi NaOCl memiliki beberapa kerugian, antara lain korosif pada logam, memiliki bau dan rasa tidak enak, serta pada pembilasan yang kurang sempurna, residual yang tersisa dapat mengiritasi mukosa rongga mulut [14].

Produk alami telah banyak digunakan sebagai sumber bagi keperluan medis serta obat-obatan. Hampir 61% obat-obatan yang dipasarkan di dunia mengandung senyawa yang merupakan produk alami [15]. Srikaya (*Annona squamosa* L.) adalah tanaman dalam keluarga *Annonaceae* yang mempunyai habitat umum di hutan tropis, serta dapat dibudidayakan di alam liar di berbagai bagian daerah yang beriklim tropis [16]. Karunia et al. (2017) dalam penelitiannya melaporkan bahwa pada ekstrak etanol biji srikaya menghasilkan zona hambat pada media biakan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Uji kromatogram GC-MS (*Gas Chromatography – Mass Spectrometer*) pada ekstrak etanol biji srikaya telah mengidentifikasi adanya senyawa metil palmitat. *Hexadecanoic acid methyl ester* (metil palmitat) termasuk golongan asam lemak yang dapat merusak struktur dinding dan membran sel bakteri. Senyawa ini bekerja secara sinergis dengan berbagai senyawa aktif lainnya sehingga meningkatkan pengaruh aktivitas antibakteri pada ekstrak biji srikaya [17].

Berdasarkan uraian di atas dan penelitian terdahulu, menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji srikaya mempunyai daya antibakteri dan berpotensi untuk dijadikan bahan alami alternatif pembersih gigi tiruan. Oleh karenanya penulis merasa perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh konsentrasi ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *S.mutans* pada basis akrilik *heat cured*.

Metode Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratoris, dengan desain penelitian menggunakan *true experiments* jenis *post test only control group design*, yaitu hanya menggunakan *post test* atau tes akhir yang hasilnya akan dilakukan analisis untuk mengetahui keberhasilan penelitian. Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium *Bio Science* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,

Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember. Waktu penelitian pada bulan Desember 2018 hingga Januari 2019.

Sampel Resin Akrilik Heat Cured

Sampel dibuat sesuai spesifikasi ADA No.17, dimana sampel berbentuk silindris dengan diameter 10 mm dan ketebalan sebesar 2 mm [18]. Adapun kriteria sampel lainnya adalah memiliki bentuk dan ukuran yang sama, tidak cacat/porus serta pemolesan hanya dilakukan pada 2 permukaan (salah satu permukaan alas dan permukaan tinggi/selimut silinder). Teknik pengambilan sampel menggunakan teknik *simple random sampling*. Populasi dibuat sejumlah 60 plat akrilik sesuai kriteria sampel. Jumlah sampel minimal yang dibutuhkan adalah 5 sampel untuk tiap kelompok perlakuan. Pengambilan sampel selanjutnya dilakukan secara *simple random sampling*, dimana peneliti mengambil sebanyak 30 sampel secara acak.

Pembuatan Ekstrak Biji Srikaya

Mengambil biji srikaya dari buah yang masak, kemudian mencuci bersih dan memasukkan biji ke dalam oven bahan, melakukan pengeringan dengan suhu oven 50°C. Biji srikaya dihaluskan dan dilanjutkan proses maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Perbandingan serbuk biji srikaya : pelarut = 1 gram serbuk : 10mL pelarut etanol 96%. Proses maserasi dilakukan sebanyak 2 kali pengulangan. Selanjutnya maserat yang didapat diuapkan menggunakan *rotator evaporator* dengan suhu 70°C hingga didapatkan ekstrak kental biji srikaya [19].

Metode Perendaman

Salah satu metode penggunaan pembersih gigi tiruan adalah dengan perendaman basis dalam cairan pembersih selama 6-8 jam selama waktu tidur di malam hari [20]. Dalam penelitian ini menggunakan waktu perendaman selama 6 jam sebagai waktu minimum seseorang melakukan perendaman gigi tiruan dalam sehari.

Pengukuran Nilai Absorbansi *S.mutans* pada Plat Akrilik

Sampel yang telah dilakukan perendaman sesuai kelompok perlakuan, selanjutnya dibilas

menggunakan larutan PBS pH 7,0. Sampel dimasukkan kedalam media BHIB dan dilakukan vibrasi menggunakan *vortex*. Selanjutnya, pengukuran nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer yang hasilnya dikonversikan dalam satuan 10⁸ CFU/mL berdasarkan rumus:

$$\frac{(\text{abs. media} + S.mutans) - (\text{abs.media})}{\text{abs. larutan standar Mc. Farland 0,5}} \cdot X$$

Keterangan :

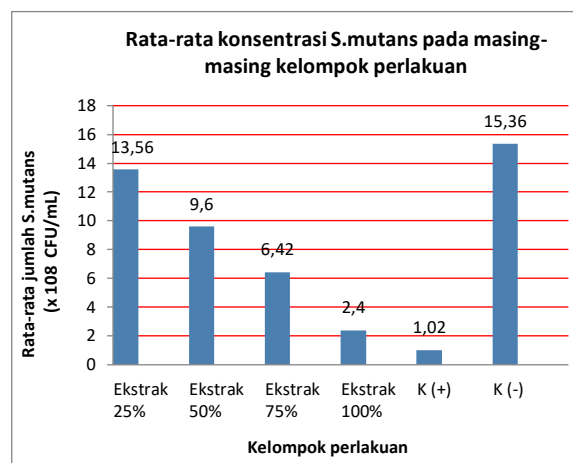
X = konsentrasi bakteri dari larutan standar Mc. Farland 0,5 (3.10⁸ CFU/mL)

Nilai absorbansi media BHIB tanpa kuman = 0,04

Nilai absorbansi larutan standar *Mc. Farland* 0,5 = 0,05

Hasil

Setelah melakukan pengukuran absorbansi *S.mutans* pada plat akrilik yang luruh menggunakan spektrofotometer, nilai yang didapat kemudian dikonversikan ke dalam satuan 10⁸ CFU/mL seperti dalam grafik berikut:



Gambar 4.1 Diagram batang rata-rata konsentrasi *S. mutans* (dalam 10⁸ CFU/mL) pada pelat resin akrilik *heat cured* setelah direndam sesuai kelompok perlakuan selama 6 jam

Pembahasan

Basis gigi tiruan di dalam rongga mulut tidak berkontak langsung dengan mukosa, melainkan terdapat lapisan pelikel yang dapat menjadi mediator respon biologis sehingga memicu perlekatan mikroorganisme untuk membentuk plak [21]. *S.mutans* merupakan bakteri pada basis gigi tiruan yang membentuk koloni dan mensintesis sukrosa menjadi substrat polisakarida ekstraseluler seperti dekstran atau

levan. Substrat tersebut bersifat lengket dan merupakan sarana bagi jamur maupun bakteri lain untuk menempel pada basis gigi tiruan.

Sampel yang digunakan berupa plat resin akrilik *heat-cured* berbentuk silinder dengan diameter 10 mm dan tinggi 2 mm. Plat resin akrilik dilakukan *polishing* pada 2 (dua) permukaan, yaitu pada salah satu permukaan alas dan permukaan tinggi silinder (plat) resin akrilik. Selain itu, berdasarkan *American Dental Association (ADA)* bahwa syarat basis gigi tiruan tidak boleh ada gelembung atau kekosongan (porus) bila dilihat tanpa pembesaran, maka sampel basis akrilik yang diambil pada penelitian ini merupakan sampel plat akrilik *heat cured* yang tidak porus [22].

Berdasarkan hasil penelitian, terdapat perbedaan pada hasil perendaman plat akrilik dalam berbagai kelompok konsentrasi. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh konsentrasi ekstrak biji srikaya terhadap nilai absorbansi bakteri *S.mutans* pada plat akrilik. Pada kelompok perlakuan perendaman plat resin akrilik *heat cured* dalam ekstrak biji srikaya, nilai absorbansi *S.mutans* paling kecil terdapat pada konsentrasi ekstrak 100%, sedangkan nilai absorbansi *S.mutans* terbesar pada konsentrasi ekstrak 25%.

Ekstrak biji srikaya mampu menghambat pertumbuhan *S.mutans* pada plat resin akrilik *heat cured*, hal ini dapat dilihat dari hasil penelitian berupa penurunan absorbansi *S.mutans* pada perendaman dalam berbagai konsentrasi ekstrak biji srikaya dibandingkan dengan perendaman menggunakan aquadest steril sebagai kontrol negatif. Hal ini ditunjang oleh penelitian yang telah dilakukan oleh Kulkarni C.P. (2017), yang mendapatkan hasil bahwa ekstrak etanol biji srikaya mempunyai daya antibakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negative [23]. Ekstrak biji srikaya mampu menghambat pertumbuhan *S.mutans* karena memiliki beberapa kandungan senyawa fitokimia aktif yang ada di dalamnya seperti alkaloid, flavonoid, glikosida, tanin dan senyawa fenolik [24]. Selain itu, beberapa kandungan asam lemak berupa lebih dari satu jenis senyawa *annonaceus acetogenins* yang juga bersifat antibakteri [25].

Senyawa asetogenin (*acetogenins*) dengan kandungan terbesar dalam biji srikaya, yaitu squamosin dan squamostatin-A. *Annonaceus acetogenins* merupakan zat bioaktif pada tanaman golongan *Annonaceae* dan termasuk sebagai asetogenin dengan spektrum aksi yang luas, termasuk efek antibiotik [26]. Asetogenin bersifat antibakteri melalui beberapa proses

mekanistik, antara lain, meningkatkan permeabilitas membran sehingga sel mengalami lisis, mengganggu rantai transfer elektron dan fosforilasi oksidatif serta menghambat enzim GTF (*glycosyltransferase*) pada membran yang berakibat pada terhambatnya pula aktivitas penyerapan nutrisi [27].

Senyawa fenolik berpengaruh terhadap membran sitoplasma sel bakteri. Akumulasi senyawa fenolik yang bersifat hidrofobik dalam *lipid bilayer* dapat mengganggu interaksi lipid-protein dan meningkatkan permeabilitas membran. Hal tersebut menyebabkan terjadinya perubahan pada struktur membran dan terjadi kebocoran secara ekstensif pada komponen intraseluler. Hancurnya integritas membran dapat memfasilitasi masuknya lebih banyak agen lain yang bersifat antibakteri ke dalam sel [28].

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Mohamad et al. (2017), dalam mencari kandungan total saponin pada biji srikaya menggunakan pelarut etanol, mendapatkan hasil bahwa total saponin pada biji srikaya sebanyak 1,21% [29]. Saponin bereaksi pada gugus fosfat dalam fosfolipid membran sel dan kemudian dapat berpenetrasi ke dalam sel. Hal ini menyebabkan hilangnya permeabilitas serta denaturasi membran sel, sehingga agen antibakteri lain dapat masuk ke dalam sel bakteri [30].

Kandungan flavonoid pada biji srikaya dapat bersifat antibakteri melalui proses denaturasi protein pada dinding sel bakteri dengan cara mengikat protein melalui ikatan hydrogen. Hal ini menyebabkan rusaknya membran sel sehingga terjadi kebocoran sitoplasma pada sel bakteri. Kandungan tannin menyebabkan gangguan permeabilitas sel berupa pembentukan polipeptida dinding sel yang kurang sempurna, sehingga sel-sel bakteri menjadi lisis oleh tekanan osmotik maupun tekanan fisik [31]. Kandungan senyawa alkaloid berupa *anonaine* merupakan senyawa yang umum ditemukan pada tanaman famili *Annonaceae*. Senyawa ini dapat menginduksi kerusakan DNA bakteri serta mengaktifasi *caspase* pada sel bakteri yang menyebabkan terjadinya apoptosis [32].

Kesimpulan

Perbedaan konsentrasi ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa* L.) memberikan pengaruh yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans* pada basis resin akrilik *heat cured* setelah proses perendaman. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji srikaya maka semakin baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri

S.mutans. Konsentrasi ekstrak biji srikaya 100% paling efektif menghambat pertumbuhan bakteri *S.mutans* pada kelompok perlakuan, sedangkan larutan NaOCl 0,5% memiliki daya hambat paling efektif dibanding semua kelompok perlakuan dan kelompok kontrol

Daftar Pustaka

- [1] Anshary, Muhammad Fauzan, Cholil dan I W. Arya. 2014. Gambaran Pola Kehilangan Gigi Sebagian pada Masyarakat Desa Guntung Ujung Kabupaten Banjar. *Jurnal Kedokteran Gigi Dentino* 2(2): 139.
- [2] Mokodompit, Rivon I., K. V. Siagian dan P. S. Anindita. 2015. Persepsi Pasien Pengguna Gigi Tiruan Lepas Berbasis Akrilik yang Menggunakan Jasa Dokter Gigi di Kotamobagu. *Jurnal e-GiGi* 3(1): 216-222.
- [3] Ambo, Andhika, A. Nurhapsari dan E. F. Rahman. 2015. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak Biji Adas (*Foeniculum vulgare mill.*) sebagai Denture Cleanser Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* pada Plat Akrilik. *ODONTO Dental Journal* 2(2): 62-67.
- [4] Dharmautama, Moh., E. Machmud dan A. M. Maruapey. 2013. Pasta Pembersih Gigi Tiruan Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Menghambat Pembentukan Plak Pada Basis Akrilik Gigi Tiruan. *Jurnal Dentofasial* 12(1): 5-10
- [5] Uzunoglu, E., A. Z. Y. Bicer, I. Dolapci dan A. Dogan. 2014. Biofilm-forming Ability and Adherence to Poly(methyl-methacrylate) Acrylic Resin Materials of Oral *Candida albicans* Strains Isolated from HIV Positive Subjects. *The Journal of Advanced Prosthodontics* 6: 30-34.
- [6] Morgan, T.D. dan M. Wilson. 2001. The Effects of Surface Roughness and Type of Denture Acrylic on Biofilm Formation by *Streptococcus oralis* in a Constant Depth Film Fermentor. *Journal of Applied Microbiology* 91: 47-53.
- [7] Atmaja, Widyapramana Dwi. 2015. Kulit Buah Kakao (*Theobroma kakao* L.) sebagai Bahan Pembersih Gigi Tiruan dan Mencegah Perlekatan *Candida albicans* pada Basis Plat Akrilik. *Stomatognathic (J. K. G Unej)* 12(2): 46-50.
- [8] Prabha.J, Lakshmi. 2015. Bacterial Load in Denture Stomatitis. *Journal of Pharmaceutical Science and Research* 7(7): 453-454.
- [9] Herawati, Erna dan Dwi Novani. 2017. Penatalaksanaan Kasus Denture Stomatitis. *Jurnal Kedokteran Gigi Unpad* 29(3): 179-183.
- [10] Vasconcelos, Laurylene César de S., F. C. Sampaio, M. C. C. Sampaio, M. d. S. V. Pereira, M. H. P. Peixoto. 2010. *Streptococcus mutans* in Denture Stomatitis Patients Under Antifungal Therapy. *Rev. odonto ciênc.*, 25(21): 120-125
- [11] Silvia, Sheila, A. A. Djais dan S. A. Soekanto. 2018. The Amount of *Streptococcus mutans* Biofilm on Metal, Acrylic Resin, and Valplast Denture Bases. *Journal of International Dental and Medical Research* 11(3): 899-905.
- [12] Zulkarnain, M. dan Jefferson Daniel B. 2014. Pengaruh Perendaman Basis Gigi Tiruan Resin Akrilik Polimerisasi Panas dalam Larutan Sodium Hipoklorit dan Vinegar Cuka Putih Terhadap Kekasaran Permukaan dan Stabilitas Warna. *Jurnal Material Kedokteran Gigi* 3(1): 22-32
- [13] Porwal, Anand, M. Khandelwal, V. Punia dan V. Sharma. 2019. Effect of Denture Cleansers on Color Stability, Surface Roughness, and Hardness of Different Denture Base Resins. *The Journal of Indian Prosthodontic Society* 17(1): 1-7
- [14] Watcharapichat, Pijitra, C. Kunavisarut, P. Pittayachawan, T. Tengrangsang. 2014. The Effect of Denture Cleansing Solutions on the Retention of Pink Locator® Attachment: 1 Year Simulation. *Mahidol Dental Journal* 34(3): 204-214.
- [15] Aamir, Javed, A. Kumari, M. N. Khan dan S. K. Medam. 2013. Evaluation of the Combinational Antimicrobial Effect of *Annona squamosa* and *Phoenix dactylifera* Seeds Methanolic Extract on Standard Microbial Strains. *International Research Journal of Biological Sciences* 2(5): 68-73.
- [16] Mwihia, Stephen K., M. P. Ngugi, J. M. Maingi, J. k. Kamau, A. W. Muhuha. 2017. Screening of Phytochemicals and Antibacterial Activity of Seed Extracts of Kenyan Sugar Apple (*Annona squamosa*). *International Journal of Life Sciences Research* 5(3): 46-52.
- [17] Karunia, Sabrina Dwie, Supartono dan W. Sumarni. 2017. Analisis Sifat Antibakteri Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) dengan Pelarut Organik. *Indonesian*

- Journal of Chemical Science* 6(1): 56-50.
- [18] Al-Muthaffer, Azad M.R. dan Shatha S. Al-Ameer. 2012. Effect of Thermocycling on Some Mechanical Properties of Polyamide Hypoallergenic Denture Base Material (Comparative Study). *J. Bagh College Dentistry* 24(2).
 - [19] Rianto, Leonov, I. A. Handayani dan A. Septiyani. 2015. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 96% Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) sebagai Antidiare yang Disebabkan oleh Bakteri *Shigella dysenteriae* dengan Metode Difusi Cakram *Jurnal Ilmiah Manuntung* 1(2): 181-186.
 - [20] Naini, Amiyatun. 2012. Perbedaan Stabilitas Warna Bahan Basis Gigi Tiruan Resin Akrilik dengan Resin Nilon Termoplastis terhadap Penyerapan Cairan. *Stomatognatic (J.K.G Unej)* 9(1): 28-32.
 - [21] Atmaja, Widyapramana Dwi. 2015. Kulit Buah Kakao (*Theobroma kakao* L.) sebagai Bahan Pembersih Gigi Tiruan dan Mencegah Perlekatan *Candida albicans* pada Basis Plat Akrilik. *Stomatognatic (J. K. G Unej)* 12(2): 46-50.
 - [22] Vitalariu, Anca Mihaela, D. Diaconu, D. Tatarciuc, O. Aungurencei, M. Moisei dan L. Barlean. 2015. Effects of Surface Characteristics of the Acrylic Resins on the Bacterial Colonization. *Revista de Chimie - Bucharest - Original Edition* 66(10): 1720-1724.
 - [23] Kulkarni C.P. 2017. Antibacterial and Insecticidal Activity of Crude Seed Extracts of *Annona squamosa* L. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention (IJPSI)* 6(9): 25-29.
 - [24] Aher, P. S., Y.S. Shinde dan P. P.Chavan. 2012. In Vitro Evaluation of Antibacterial Potential of *Annona Squamosa* L. Against Pathogenic Bacteria. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research (IJSPR)* 3(5): 1457-1460.
 - [25] Ristiati N. P., N. L. P. M. Widiyanti, S. Mulyadiharja dan I P. A. Putra. 2018. Effectivity of Custard Apple's (*Annona squamosa*) Seed Extract in Various Concentrations on the Growth of *Escherichia coli*. *Journal of Physics: Conference Series* 1116(2018).
 - [26] Leatemia, J. Audrey dan Murray B. Isman. 2004. Toxicity and Antifeedant Activity of Crude Seed Extracts of *Annona squamosa* (*Annonaceae*) Against Lepidopteran Pests and Natural Enemies. *International Journal of Tropical Insect Science* 24(2): 150–158.
 - [27] Yoon, Bo Kyeong, J. A. Jackman, E. R. V. González dan N. J. Cho. 2018. Antibacterial Free Fatty Acids and Monoglycerides: Biological Activities, Experimental Testing, and Therapeutic Applications. *International Journal of Molecular Sciences* 19(4): 1-40.
 - [28] Wu, Yanping, J. Bai, K. Zhong, Y. Huang, Hu. Qi, Y. Jiang dan H. Gao. 2016. Antibacterial Activity and Membrane-Disruptive Mechanism of 3-p-trans-Coumaroyl-2-hydroxyquinic Acid, a Novel Phenolic Compound from Pine Needles of *Cedrus deodara*, against *Staphylococcus aureus*. *Molecular Diversity Preservation International (MDPI): Molecules Journal* 21(1084): 1-12.
 - [29] Mohamad, Nasser, E. M. Majid, A. S. Falah, C. Layla, H. Akram, C. Ali dan R. Hassan. 2017. Antibacterial, Antioxidant and Antiproliferative Activities of the Hydroalcoholic Extract of the Lebanese *Annona squamosa* L. Seeds. *International Research Journal of Pharmacy* 8(1): 1-7.
 - [30] Berniyanti, Titiek dan Erma Mahmiyah. 2015. Microbiological Studies on the Production of Antimicrobial Agent by Saponin *Aloe vera* Linn Against *Streptococcus sanguinis*. *Research Journal of Microbiology* 10(8): 385-392.
 - [31] Ristiati N. P., N. L. P. M. Widiyanti, S. Mulyadiharja dan I P. A. Putra. 2018. Effectivity of Custard Apple's (*Annona squamosa*) Seed Extract in Various Concentrations on the Growth of *Escherichia coli*. *Journal of Physics: Conference Series* 1116 (2018).
 - [32] Pinto, Nicolas C.C., J. B. Silva, L. M. Menegati, M. C. M. R. Guedes, L. B. Marques, T. P. D. Silva, R. C. N. D. Melo, E. M. D. Souza-Fagundes, M. J. Salvador, E. Scio dan R. L. Fabri. 2017. Cytotoxicity and Bacterial Membrane Destabilization Induced by *Annona squamosa* L. Extracts. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 89(3): 2053-2073.